

А.П. Стадниченко,
доктор біологічних наук, професор;
Г.Є. Киричук,
кандидат біологічних наук, в.о. доцента;
Л.М. Янович,
кандидат біологічних наук, старший викладач;
Л.Д. Іваненко,
старший викладач;
(Житомирський педуніверситет)

ВПЛИВ ТРЕМАТОДНОЇ ІНВАЗІЇ ТА РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ КАРБОФОСУ НА ВМІСТ ГЕМОГЛОБІНУ В ГЕМОЛІМФІ *PLANORBARIUS CORNEUS* (MOLLUSCA: PULMONATA: BULINIDAE)

При дії карбофосу (1, 25, 50, 75 мг/л) на Planorbarius corneus не спостерігається змін фізико-хімічних властивостей гемолімфи. Проаналізовані основні її характеристики: загальний об'єм, активна реакція, вміст гемоглобіну, забезпеченість останнім загальної маси тіла та маси м'якого тіла молюсків у нормі та при трематодній інвазії.

Загальновідомо, що з року в рік зростає забруднення водного середовища пестицидами, які, включаючись у ланцюги живлення гідробіоценозів, циркулюють на всіх трофічних рівнях останніх. Шкода, якої завдають ці токсиканти водним організмам, зумовлюється як їх природою, так і рівнем їх накопичення. Широко застосовуваними у сільському господарстві пестицидами (контактні інсектициди, акарициди, дефоліанти) є фосфорорганічні сполуки (ФОС), використання яких дозволяє одержати суттєві додатки до врожаїв. На жаль, правила транспортування та застосування цих речовин нерідко порушуються. Вони стійкі в навколишньому середовищі (у воді, ґрунті, рослинах розкладаються протягом місяця), концентрація різних ФОС у природних водах часто перевищує діючі сьогодні ГДК (гранично допустимі концентрації) у багато разів. Нам цікаво було з'ясувати, як різні концентрації однієї з ФОС впливають на вміст гемоглобіну у гемолімфі та на забезпеченість ним тканин тіла дуже розповсюдженого у водоймах Центрального Полісся легеневого червоногого молюска витушки рогової у нормі та при інвазії її партенітами й личинками трематод.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліджено 279 екземплярів витушок рогових *Planorbarius corneus* (Linne, 1959), зібраних вручну у травні 1998 р. у р. Тетерів (у межах м. Житомира).

Таблиця 1.

Загальні відомості про матеріал дослідження

Показники	n	Інвазія	Lim	$\bar{X} \pm m_x$
1	2	3	4	5
Контроль				
Діаметр черепашки, мм	47	Немає	22,30 – 31,70	27,0 \pm 0,405
	12	Є	25,80 – 27,70	26,5 \pm 0,603
Загальна маса тіла, мг	47	Немає	- 6200	4080 \pm 1470,9
	12	Є	3250 – 4250	3626 \pm 314,29
Маса м'якого тіла, мг	46	Немає	930 – 2400	1626 \pm 53,77
	12	Є	1310 – 1560	1440 \pm 72,43
1 мг/літратура				
Діаметр черепашки, мм	40	Немає	21,0 – 32,70	27,85 \pm 0,477
	10	Є	20,4 – 32,60	26,04 \pm 1,054
Загальна маса тіла, мг	40	Немає	2150 – 6070	4016 \pm 156,50
	10	Є	1760 – 4910	3616 \pm 340,28
1	2	3	4	5
Маса м'якого тіла, мг	40	Немає	970 – 2460	1474 \pm 57,54
	10	Є	850 – 1870	1401 \pm 103,20
25 мг/л				
Діаметр черепашки, мм	45	Немає	22,6 – 31,7	27,8 \pm 0,372
	15	Є	23,3 – 30,7	27,90 \pm 1,599
Загальна маса тіла, мг	45	Немає	2400 – 5750	3930 \pm 128,46
	15	Є	2340 – 5380	3872 \pm 584,50
Маса м'якого тіла, мг	44	Немає	850 – 2190	1520 \pm 46,89
	15	Є	1100 – 2400	1530 \pm 233,92
50 мг/л				

Діаметр черепашки, мм	47 13	Немає Є	20,0 – 32,9 26,8 – 33,5	27,38±0,507 30,07±1,936
Загальна маса тіла, мг	47 13	Немає Є	1970 – 5970 4300 - 5840	4057±165,47 5123±447,76
Маса м'якого тіла, мг	47 13	Немає Є	1030 – 2130 1380 - 1870	1511±47,39 1693±157,09
75 мг/л				
Діаметр черепашки, мм	38 11	Немає Є	21,5 – 32,3 22,3 – 31,5	27,8±0,442 26,50±0,789
Загальна маса тіла, мг	39 11	Немає Є	2350 – 6600 2970 - 5780	4525±171,20 4203±303,73
Маса м'якого тіла, мг	39 11	Немає Є	940 – 2570 1030 - 1760	1652±53,82 1433±66,40

У лабораторію моллюсків доставляли у відкритих поліетиленових пакетах (без води) і відразу використовували в експериментах. Токсикологічні досліді (орієнтаційний і основний) поставлено за методикою Алексєєва [1]. Першим із них встановлено значення основних токсикологічних показників: МВК (LC₀) – 10, ЛК₅₀ (LC₅₀) –100, ЛК₁₀₀ (LC₁₀₀) - 1000 мг/л карбофосу (малатіон, малатон, АС-4049, кіпфос, малатіон ЛВ, сполука 4049, фосфотіон, ФОГ-3, фосфотіон-50, -0,0-диметил-*s*-(1,2-біс-дикарбостоксиетил) дитіофосфат) і з'ясовано, що цей токсикант за діючою сьогодні шкалою ступеня токсичності отруйних речовин [2] для витушки рогової є помірно токсичним. У межах концентрацій МВК- ЛК₅₀ обрано 4 концентрації (1,25,50,75 мг/л), які використано в основному досліді. Експерименти супроводжувалися контролем. Тварин цієї групи тримали у відстояній (1 доба) воді з водогінної мережі міста. Тривалість інтоксикації – 2 доби, через те, що для ФОС характерним є слабо виражена кумулятивна дія та швидке знезараження в організмі [3]. Через добу розчини токсикантів замінювали свіжими. По завершенні токсикологічного досліді моллюсків вимірювали за допомогою штангенциркуля з точністю до 0,1 мм і зважували на технічних терезах, попередньо обсушивши фільтрувальним папером. Загальні відомості про матеріал дослідження наведено в таблиці 1. Гемолімфу добували методом прямого знекровлювання. Вміст у ній гемоглобіну визначали за Салі у нашій модифікації [4]. Активну реакцію гемолімфи встановлювали за допомогою паперу “Рифан”. З тканини гепатопанкреаса виготовляли тимчасові гістологічні препарати, які піддавали мікроскопуванню (МБИ-3) на предмет виявлення трематодної інвазії. До уваги бралися особини, заражені спороцистами та церкаріями *Cercaria pilosa* Zdun, 1961 (= *Haematolachnus* sp.). Екстенсивність інвазії – 21,86%. Інтенсивність її слабка (уражено паразитами до 10% гостального біотопу) та помірною (ураження сягає 50%), рідко висока (понад 50%).

Цифрові результати досліджень оброблено методами варіаційної статистики за Лакінім [5].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

З'ясовано, що за нормальних умов середовища (контроль) слабка та помірною інвазія не впливають на фізико-хімічні показники гемолімфи витушки (табл.2). Деяке зменшення об'єму гемолімфи та значення рН, як і збільшення концентрації гемоглобіну, є статистично невірними. Дуже близькою є у цих двох груп моллюсків і забезпеченість гемоглобіном як загальної їх маси, так і маси м'якого тіла (табл. 3). Відсутність відмінностей за вищезазначеними показниками між вільними від інвазії та ураженими паразитами тваринами свідчить про те, що при оптимальних умовах існування та невисокій інтенсивності інвазії захисні сили організму витушок виявляються достатніми для протидії паразитарному чиннику.

Карбофос, як і всі ФОС, - отрута резорбтивної дії, яка в організм гідробіонтів потрапляє через шкірні покриви, не залишаючи на них жодних слідів ушкодження. Наслідки впливу виявляються лише при певному рівні накопичення в організмі. Точками прикладання карбофосу є нервова система та гемолімфа. ФОС небезпечні ще й через те, що їм притаманна функціональна кумуляція, яка викликає сенсibiliзацію організму до повторних отруєнь.

У слабкому розчині карбофосу (1 мг/л) дії токсиканта досить добре протистоять як незаражені, так і заражені трематодами моллюски (табл. 2,3), про що свідчить майже однаковий рівень усіх досліджуваних показників, за винятком одного рівня забезпеченості гемоглобіном їх м'якого тіла. Цей показник у незаражених витушок, підданих дії затруєного середовища, залишається на рівні контролю, а у заражених трематодами тварин значення його знижується в 1,2 рази. Це свідчить про те, що незаражені витушки в розчині, що містить 1 мг/л карбофосу, перебувають ще в умовах екологічного комфорту, в той час як у тварин, заражених за цих же умов, спрацьовує захисно-приспосувальний механізм, скерований на підвищення рівня загального обміну речовин. Це спричинює зрушення вправо у системі “гемоглобін – оксигемоглобін”, яке супроводжується зменшенням концентрації гемоглобіна в гемолімфі, отже, й падінням рівня забезпеченості ним маси м'якого тіла цих гідробіонтів.

Таблиця 2.

Вплив трематодної інвазії і різних концентрацій карбофосу на вміст гемоглобіну в гемолімфі витушки рогової та його основні характеристики

Показники	n	Інвазія	Lim	$\bar{X} \pm m_x$	σ	CV
Контроль						
Об'єм гемолімфи, мл	46	Немає	0,11 – 1,19	0,56±0,045	0,303	54,11
	12	Є	0,28 – 0,61	0,41±0,100	0,174	42,44
рН гемолімфи	46	Немає	3 – 7	5,15±0,199	1,350	26,21
	12	Є	3 – 6	5,00±1,000	1,732	34,64
Вміст гемоглобіну, г%	46	Немає	0,5 – 2,4	0,88±0,051	0,345	39,20
	12	Є	0,7 – 1,3	1,03±0,176	0,305	29,61
1 мг/літратура						
Об'єм гемолімфи, мл	39	Немає	0,10 – 1,20	0,56±0,040	0,250	44,64
	10	Є	0,30 – 0,90	0,46±0,060	0,192	41,74
рН гемолімфи	39	Немає	5 – 7	6,33±0,096	0,599	9,47
	10	Є	5,5 – 7	6,30±0,171	0,540	8,57
Вміст гемоглобіну, г%	37	Немає	0,28 – 1,20	0,84±0,040	0,249	29,63
	10	Є	0,46 – 1,20	0,81±0,078	0,246	30,44
25 мг/л						
Об'єм гемолімфи, мл	42	Немає	0,05 – 1,05	0,51±0,036	0,234	46,46
	15	Є	0,12 – 0,98	0,51±0,145	0,325	64,26
рН гемолімфи	44	Немає	3 – 7	5,69±0,152	1,007	17,69
	15	Є	3 – 6	5,80±0,735	1,643	34,23
Вміст гемоглобіну, г%	37	Немає	0,3 – 1,1	0,62±0,034	0,208	33,74
	15	Є	0,33 – 0,95	0,62±0,109	0,243	39,32
50 мг/л						
Об'єм гемолімфи, мл	43	Немає	0,05 – 1,30	0,66±0,059	0,386	58,27
	13	Є	0,71 – 1,05	0,90±0,099	0,172	19,17
рН гемолімфи	44	Немає	5 – 7	5,98±0,054	0,357	5,97
	13	Є	5,5 – 6	5,83±0,167	0,239	4,96
Вміст гемоглобіну, г%	34	Немає	0,35 – 2,3	1,01±0,109	0,634	62,96
	13	Є	1,2 – 1,3	1,27±0,034	0,058	4,57
75 мг/л						
Об'єм гемолімфи, мл	38	Немає	0,20 – 1,60	0,99±0,070	0,440	44,44
	11	Є	0,35 – 1,70	0,94±0,155	0,515	54,78
рН гемолімфи	38	Немає	6 – 7	6,80±0,062	0,380	5,59
	11	Є	6 – 7	6,50±0,126	0,420	6,46
Вміст гемоглобіну, г%	37	Немає	0,36 – 1,30	0,95±0,037	0,225	23,68
	11	Є	0,60 – 1,10	0,75±0,047	0,155	20,67

У сильних розчинах карбофосу (25-75 мг/л) в міру збільшення їх концентрації об'єм гемолімфи неухильно зростає (табл. 2) – у незаражених витушок у 1,8, у заражених – у 2 рази. Це може бути наслідком як обводнення організму, так і затримки в ньому води. В усякому разі, маса тіла тварин (м'які частини), експонованих у затруєному середовищі при 25 мг/л карбофосу, збільшується на 10-30 % порівняно з особинами, підданими дії слабого розчину (1 мг/л) цього токсиканта.

Обводнення тканин – один із найчутливіших показників стану мітохондрії, з якими пов'язані проникненість мітохондріальних мембран, активність транспорту іонів, регуляція інтенсивності гліколізу, що відбувається у цитоплазмі, та окислювального фосфорилування.

У тварин контрольної групи активна реакція гемолімфи кисла (рН=5.0-5.2). У розчинах карбофосу із збільшенням концентрації останнього відбувається підлучнення гемолімфи, очевидно, через деяке розбалансування її буферних систем. Активна реакція її, зсуваючись дещо у лужний бік, все ж залишається слабкокислою (рН не більше 6,5-6,8).

При збільшенні концентрації токсиканта в середовищі від 1 до 25 мг/л вміст гемоглобіну в гемолімфі усіх піддослідних тварин різко падає (на 25% ; Р більше 99,9%). Це означає, що вказана концентрація карбофосу є для них стресовим чинником, якому тварини протиставляють підсилення процесу перетворення гемоглобіну на оксигемоглобін. При 50 – 75 мг/л пестициду у розчинах наявне пригнічення усіх процесів життєзабезпечення, свідченням чого є різке зростання (табл.2) концентрації гемоглобіну (через зменшення концентрації оксигемоглобіну). Можливо однаке, що за цих умов, коли неодмінним є розвиток хронічної гіпоксії, спричинений дією на організм моллюсків високими концентраціями ФОС, пристосування їх до умов кисневого голодування відбувається за рахунок зниження інтенсивності процесів обміну речовин. Це означає, що у них розвиваються реакції, скеровані не на боротьбу за кисень, а на пристосування до існування без нього. Це тим більш вірогідно, що беззаперечно доведено [6], бо у цих тварин, підданих дії токсикантів, за умов гіпоксії відбувається перехід від аеробного шляху розщеп-

лення вуглеводів до гліколізу, що дозволяє їм тривалий час витримувати нестачу кисню. При цьому збільшення витривалості щодо дії на них несприятливих чинників середовища не тільки не знижується, а й дещо зростає за рахунок зменшення чутливості клітин і підвищення їх стійкості щодо дії ушкоджуючих чинників.

Таблиця 3.

Вплив трематодної інвазії і різних концентрацій карбофосу на забезпеченість гемоглобіном тіла витушки рогової

Показники	n	Інвазія	Lim	$\bar{X} \pm m_x$	σ	CV
Контроль						
Забезпеченість гемоглобіном загальної маси тіла, г/кг	46	Немає	1,01 – 5,79	2,25±0,153	1,038	46,13
	12	Є	2,07 – 4,00	2,88±0,578	1,000	34,72
Забезпеченість гемоглобіном м'якого тіла, г/кг	46	Немає	2,50 – 13,53	5,66±0,344	2,330	41,17
	12	Є	4,82 – 9,92	7,26±1,477	2,556	35,21
1 мг/літратура						
Забезпеченість гемоглобіном загальної маси тіла, г/кг	37	Немає	0,72 – 4,80	2,21±0,157	0,954	43,17
	10	Є	1,42 – 3,58	2,37±0,253	0,810	34,20
Забезпеченість гемоглобіном м'якого тіла, г/кг	37	Немає	1,22 – 12,22	5,92±0,380	2,320	39,19
	10	Є	3,54 – 10,00	5,88±0,620	1,960	33,33
25 мг/літратура						
Забезпеченість гемоглобіном загальної маси тіла, г/кг	37	Немає	0,21 – 3,24	1,58±0,109	0,666	42,15
	15	Є	0,62 – 3,26	1,83±0,433	0,969	52,95
Забезпеченість гемоглобіном м'якого тіла, г/кг	37	Немає	1,88 – 6,14	4,23±0,240	1,480	34,99
	10	Є	1,38 – 7,92	4,68±1,186	2,652	56,67
50 мг/літратура						
Забезпеченість гемоглобіном загальної маси тіла, г/кг	34	Немає	0,59 – 7,93	2,49±0,35	2,042	82,01
	13	Є	2,31 – 3,02	2,52±0,249	0,432	17,14
Забезпеченість гемоглобіном м'якого тіла, г/кг	34	Немає	1,45 – 13,00	7,20±0,962	5,610	77,992
	13	Є	6,67 – 10,00	7,96±1,031	1,785	22,43
75 мг/літратура						
Забезпеченість гемоглобіном загальної маси тіла, г/кг	37	Немає	3,00 – 8,67	5,87±0,232	1,411	34,10
	11	Є	3,33 – 7,00	5,38±0,403	1,336	33,33
Забезпеченість гемоглобіном м'якого тіла, г/кг	37	Немає	1,00 – 4,79	2,20±0,123	0,750	24,04
	11	Є	1,03 – 2,91	1,89±0,190	0,630	24,83

Подібного характеру зміни стосуються і таких показників, як забезпеченість гемоглобіном загальної маси та маси м'якого тіла тварин (табл.3). Відсутність статистично вірогідних відмінностей за цими показниками між незараженими і зараженими трематодами витушками зумовлена тим, що серед останніх переважали моллюски, слабо та помірно інвазовані паразитами.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Алексеев В.А. Основные принципы сравнительно – токсикологического эксперимента. //Гидробиол. журн.– 1981.- Т.17, №3. – С. 92 – 100.
2. Метелев В.В., Канаев А.И., Дзасохова Н.Г. Водная токсикология .- М.: Колос, 1971 - 247 с.
3. Врочинский И.П. Гигиена и токсикология пестицидов и клиника отравлений. – 1967. - Вып. 5. - С. 45 – 62.
4. Стадниченко А.П., Іваненко Л.Д., Бургомистренко Л.Г.Изменение физико-химических свойств гемолимфы (*Planorbarius corneus* (Gastropoda, Pulmonata) при инвазии партенитами *Cotylurus cornutus* (Trematoda, Strigeidae) // Паразитология. – 1980. - Т. 14. – Вып. 1. – С. 66 –70.
5. Лакин Г. Ф. Биометрия. - М.: Высш. шк.,1973. – 348 с.
6. Биргер Т. И. Метаболизмы водных беспозвоночных в водной среде. - К.: Наук. думка., 1979. – 189 с.

Матеріал надійшов до редакції 29.12.2000 р.

Стадниченко А.П., Киричук Г.Є., Янович Л.Н., Іваненко Л.Д. Влияние трематодной инвазии и разных концентраций карбофоса на содержание гемоглобина в гемолимфе *Planorbarius corneus* (Mollusca:Pulmonata:Bulinidae).

При воздействии карбофоса (1, 25, 50 75 мг/л) на *Planorbarius corneus* наблюдаются изменения физико-химических свойств гемолимфы. Проанализированы основные её характеристики: общий объем, её активная реакция, содержание гемоглобина, обеспеченность последним общей массы тела и массы тела моллюсков в норме и при трематодной инвазии.

Stadnychenko A.P., Kirichuk G.Ye., Yanovich L.N., Ivanenko L.D The Effect of Trematode Invasion and Various Concentrations of Carbophos on the Hemoglobin Content in the Hemolymph of *Planorbarius Corneus* (Mollusca:Pulmonata:Bulinidae).

Changes of physicochemical properties of the hemolymph of *Planorbarius corneus* due to the effect of carbophos (1, 25, 50,75 mg/l) are observed. The analysis deals with the main characteristics of the hemolymph: its volume, active reaction, hemoglobin content, hemoglobin provision of the total body mass and the mass of the soft body of mollusks under normal conditions and as a result of trematode invasion.